

(19)

Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 0 869 173 A2

(12)

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:  
07.10.1998 Patentblatt 1998/41

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>: C12N 5/00, A61L 27/00

(21) Anmeldenummer: 98101337.8

(22) Anmeldetag: 27.01.1998

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
AT BE CH DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC  
NL PT SE

(30) Priorität: 27.02.1997 DE 19707910

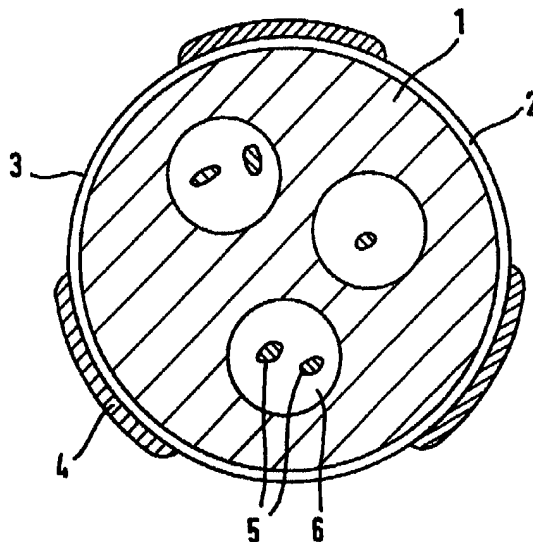
(71) Anmelder: Zimmermann, Ulrich  
97295 Waldbrunn (DE)

(72) Erfinder: Zimmermann, Ulrich  
97295 Waldbrunn (DE)

(74) Vertreter:  
Pöhner, Wilfried Anton, Dr.  
Postfach 63 23  
97013 Würzburg (DE)

### (54) Träger für Zellkulturen

(57) Vorgeschlagen wird ein Träger für Zellkulturen, insbesondere ein Mikroträger für Bioreaktoren oder künstliche Organe, auf dessen Oberfläche trägergebundene Zellen angesiedelt sind, wobei der Träger aus einem Alginat (1) besteht, die Oberfläche (3) des Trägers mit einer Schicht aus einem Adhäsionsprotein (2) überzogen ist und die Zellen (4) auf dem Adhäsionsprotein (2) befindlich sind.



EP 0 869 173 A2

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft einen Träger für Zellkulturen, insbesondere einen Mikroträger für Bioreaktoren oder künstliche Organe, auf dessen Oberfläche trägergebundene Zellen angesiedelt sind.

Um die vorteilhafte Handhabung von Zellen in biotechnologischen Reaktoren zu ermöglichen sowie künstliche Organe mit lebenden Zellen herzustellen, ist es bekannt, Zellkulturen auf der Oberfläche eines Trägers anzusiedeln. Auf diese Weise lassen sich beispielsweise menschliche Zellen oder andere Säugetierzellen ortsfest fixieren, so daß sie in eine Nährlösung einbringbar sind und sich gegebenenfalls wieder mit dem Träger entnehmen lassen, ohne daß das Problem einer nachfolgenden Abscheidung zur Rückgewinnung aus der Lösung besteht. Während Zellen zur Herstellung von künstlichen Organen vorzugsweise auf einem Gerüst aus bioresorbierbarem Kunststoff angesiedelt sind, das entsprechend dem einzubringenden Implantat geformt ist, werden bei biotechnologischen Reaktoren meist lose Streuungen von Kugeln eingesetzt, die in Nährlösungen suspendiert sind. Die Durchmesser der Träger liegen in der Regel im Millimeter- oder Submillimeterbereich, so daß sie somit i. a. als Mikroträger zu bezeichnen sind. Als Materialien sind eine Vielzahl unterschiedlicher Werkstoffe gebräuchlich, beispielsweise Dextran, Polystyrol, Polyacrylamid, Zellulose, Gelatine oder Chitosan.

Die vorgenannten Materialien haben den Nachteil, daß sie in der Regel eine ungenügende Biokompatibilität aufweisen und daher insbesondere nicht in lebenden Geweben als Organersatz verwendbar sind. Diese Vorgehensweise wird z. B. zur Behandlung der Diabetes mellitus vorgeschlagen, indem Mikroträger mit insulinproduzierenden Zellen in die Leber oder den Pankreas appliziert werden. Weiterhin ist bei gebräuchlichen Materialien meist eine erhebliche Begrenzung der möglichen Trägergrößen und -geometrien gegeben. Schließlich dienen Bioreaktoren nicht nur der Produktion bestimmter, chemischer Substanzen sondern vielfach auch zur Vermehrung von Zellen. In diesem Fall ist es erforderlich, die Zellen nach Abschluß von Vermehrung und Wachstum von den Trägern abzulösen. Die zu diesem Zweck gebräuchlichen Enzyme bewirken häufig Schädigungen der zu gewinnenden Zellen, so daß ihre Verwendung problematisch ist.

Weiterhin ist es im Stande der Technik bekannt, Alginat zur räumlichen Festlegung von Zellen zu verwenden. Aus Alginaten lassen sich auf einfache Weise Partikel unterschiedlicher Größe und Gestalt herstellen. Dabei ermöglicht es die Variation der Prozeßparameter, beispielsweise der Alginatkonzentration, des Molekulargewichtes oder des Verhältnisses von Mannuron- zu Guluronsäure im Ausgangsstoff, Materialien mit unterschiedlichen Eigenschaften, etwa Partikel- oder Porengrößen, zu erzeugen. Ein weiterer Vorteil reiner Alginat ist ihre hervorragende Biokompatibilität. Zur

Ansiedlung trägergebundener Zellen auf ihren äußeren Oberflächen sind Alginat jedoch nicht geeignet, weil sich die Zellen dort nicht festsetzen. Daher erfolgt die Fixierung der Zellen durch Einkapselung im Inneren von Alginatpartikeln, vorzugsweise in größeren Hohlräumen.

Vor diesem Hintergrund hat es sich die Erfindung zur Aufgabe gestellt, einen stabilen, biokompatiblen Träger für Zellkulturen zu entwickeln, auf dessen äußerer Oberfläche Zellen angesiedelt sind und von der sie sich schädigungsfrei ohne Enzyme ablösen lassen.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß der Träger aus einem Alginat besteht, die Oberfläche des Trägers mit einer Schicht aus einem Adhäsionsprotein überzogen ist und die Zellen auf dem Adhäsionsprotein befindlich sind.

Die zentrale Idee der Erfindung besteht darin, als Trägermaterial für die Zellkulturen ein Alginat zu verwenden, wobei sich Alginat mit hohen Mannuronsäureanteilen im Bereich von etwa 70 Prozent als vorteilhaft erwiesen haben. Um die Ansiedlung von Zellen auf der Oberfläche des Trägers zu ermöglichen, ist sie mit einer Schicht aus einem Adhäsionsprotein überzogen, auf dem sich die Zellen festsetzen. Somit sind die Zellen auf dem Adhäsionsprotein fixiert, das seinerseits am Alginat haftet.

Auf diese Weise entsteht ein Träger für Zellkulturen, der sich entsprechend den Eigenschaften des Alginats durch eine hohe Biokompatibilität auszeichnet. Er ist daher insbesondere für die in vivo-Geweberekonstruktion geeignet, zeigt aber auch eine gute chemische Stabilität in vitro. Unter Verwendung körpereigener Zellen lassen sich Abstoßungsreaktionen des Implantats vermeiden. Im Gegensatz zu bioresorbierbaren Materialien treten im Fall des vorgeschlagenen Trägers nach der Implantation auch keine Ausscheidungsprozesse von Abbauprodukten aus dem Körper auf, die in der Regel mit Entzündungen einhergehen. Weiterhin weist der Träger eine hohe mechanische Stabilität auf, da die dreidimensionale Struktur des Alginats durch das Adhäsionsprotein verstärkt und gestützt ist. Das Protein bewirkt eine sichere Haftung der auf ihm siedelnden Zellen, die somit ortsfest auf der Trägeroberfläche fixiert sind. Schließlich lassen sich empfindliche Zellen auch ohne Enzyme vom Trägermaterial ablösen, indem der Alginatanteil des Trägers - wie im folgenden noch näher erläutert - verflüssigt wird.

In einer vorteilhaften Weiterbildung der Erfindung findet als Adhäsionsprotein Kollagen Verwendung, das auf der Alginatoberfläche eine im wesentlichen zweidimensionale Faserstruktur ausbildet. Auf diese Weise ist eine sichere Haftung der Zellen auf dem Träger und dessen hohe mechanische Stabilität gewährleistet.

Für einen verbesserten Schutz der Adhäsionsproteine auf der Alginatoberfläche vor biologischen Abbauprozessen kann der Träger mit einer Lösung mit einem darin befindlichen chemischen Stabilisator behandelt werden. Hierfür werden insbesondere solche Substan-

zen vorgeschlagen, die zu einer Vernetzung der Adhäsionsproteine untereinander führen, speziell Tannin, Glutardialdehyd oder Carbodiimide.

Für den Alginatanteil des Trägers haben sich insbesondere Bariumalginat bewährt. Die Bariumionen, welche die Alginatmoleküle untereinander verbinden, bewirken eine hohe chemische Stabilität des Alginatgels sowohl unter in vitro- als auch in vivo-Bedingungen. Speziell die Beständigkeit von Calciumalginaten wird deutlich übertroffen.

Alginatpartikel zeigen erhebliche Größenvariationen in Abhängigkeit von Änderungen der umgebenden Ionenkonzentration, insbesondere des pH-Wertes. Derartige Schwankungen können beispielsweise durch das Zellwachstum auf der Trägeroberfläche hervorgerufen werden. Um damit einhergehende Größenvariationen zu vermeiden, die zu einer Ablösung der Adhäsionsproteine von der Trägeroberfläche führen kann, wird vorgeschlagen, dem Alginat eine chemische Puffersubstanz zuzusetzen. Zu diesem Zweck ist u. a. der Wirkstoff RPMI 1640 geeignet.

Vorzugsweise umschließt das Alginat einen oder mehrere Hohlräume, deren Herstellung analog der im Stande der Technik bekannten Alginatkapseln vorgenommen wird. In das Alginat oder darin befindliche Hohlräume sind Wirkstoffe einbringbar, mit denen sich das Zellwachstum beeinflussen läßt. Dabei kann es sich beispielsweise um Nährstoffe, Wachstumsfaktoren, Hormone oder Antibiotika handeln, die insbesondere das Wachstum junger Zellkulturen fördern, etwa in Konkurrenz zu unerwünschten Zellstämmen. Da die Bereitstellung der Wirkstoffe in unmittelbarer Umgebung der Zellen erfolgt, läßt sich eine ausreichende Konzentration auch bei geringer Menge sicherstellen, so daß erhebliche Kostenvorteile entstehen.

Einige Zellen gedeihen nur in Gegenwart anderer Zellsorten, mit denen Wechselbeziehungen bestehen. Unter verschiedenen Zellsorten sind dabei sowohl unterschiedliche Zellarten als auch Zellen der gleichen Art in verschiedenen Wachstumsstadien oder morphologischen Ausprägungen zu verstehen. Im allgemeinen sind Stoffwechselprodukte der einen Zellsorte für das Wachstum oder den Stoffwechsel der jeweils anderen Zellsorte erforderlich. Häufig läßt sich auch der Stoffumsatz einer Zelle durch Anwesenheit einer anderen Zellsorte erheblich steigern. Daher wird vorgeschlagen, auf dem Träger unterschiedliche, einander ergänzende Zellsorten anzusiedeln. Denkbar ist auch, anstelle der Einbringung von Wirkstoffen in den Träger solche Zellen auf oder in ihm anzusiedeln, welche den jeweiligen Wirkstoff produzieren.

Auch wenn mehrere Zellsorten auf einem Träger siedeln, ist häufig beabsichtigt, lediglich eine von ihnen oder ihre Stoffwechselprodukte zu nutzen, während die übrigen Zellsorten ausschließlich zur Wachstumsförderung oder Stoffwechselbeeinflussung dienen. Um die Gewinnung der vorgesehenen Zellsorte bzw. ihrer Stoffwechselprodukte zu erleichtern wird vorgeschlagen,

daß auf der äußeren Oberfläche des Trägers und in seinem Inneren unterschiedliche Zellsorten vorhanden sind. Vorzugsweise befindet sich auf der äußeren Trägeroberfläche dabei eine Monokultur der primär genutzten Zellen. Der Stoffaustausch zwischen den Zellsorten kann aufgrund der Permeabilität auch durch das Alginat hindurch erfolgen.

Für den Einsatz in Bioreaktoren haben sich insbesondere kugelförmige Träger bewährt, die leicht herstellbar sind und eine gute mechanische Stabilität aufweisen.

Zur Herstellung von Implantaten wird der Träger dagegen vorzugsweise durch Abguß eines Gewebeabdrucks hergestellt. Somit lassen sich in den Abmessungen vorgegebene, dreidimensionale Implantate erzeugen, deren äußere Oberfläche in ihrer Struktur natürlichen Gewebematerialien entspricht. Im Inneren sind gegebenenfalls verschiedene Zellsorten in unterschiedlichen räumlichen Anordnungen vorhanden. Weiterhin ist es denkbar, Träger in größere Raumstrukturen, etwa ein Raumgitter zu integrieren. Auf diese Weise sind auch großflächige Organdefekte oder -verluste ausgleichbar.

Zur Herstellung des vorgeschlagenen Trägers wird zunächst seine geometrische Gestalt aus dem Alginat geformt. Dabei wird eine Alginatlösung durch Zugabe einer gelierenden Substanz, etwa einer Mischung aus Bariumchlorid, Morpholinpropan sulfonsäure und Kochsalz gehärtet. Um kugelförmige Träger zu erzeugen, wird die Alginatlösung zweckmäßig in ein Fällungsbad mit dem gelösten Geliermittel eingetropft, wobei sich zur Herstellung von Mikroträgern geringen Durchmessers luftbeaufschlagte Sprühdüsen eignen. Alternativ ist die Gelierung in Gußformen möglich, um Gewebeabdrücke zu erhalten. Während des Herstellungsprozesses lassen sich auf im Stande der Technik bekannte Weise auch Hohlräume, Zellen oder Wirkstoffe in das Innere der Alginatpartikel einbringen. Die Abtrennung der Partikel aus dem Fällungsbad erfolgt vorzugsweise mit einer Zentrifuge. Anschließend werden die geformten Alginatpartikel in eine verdünnte Lösung eines Adhäsionsproteins, vorzugsweise Kollagen eingebracht. Die Gelierung des Proteins bzw. Kollagens wird bewirkt, indem der pH-Wert der Lösung verändert wird. Dabei scheidet sich ein großer Teil auf der Trägeroberfläche ab, während überschüssige Anteile gelierten Proteins im Lösungsmittel verbleiben und sich abgießen lassen. Die Abtrennung der Träger aus der Lösung erfolgt vorzugsweise gleichfalls unter Verwendung einer Zentrifuge.

Für einen verbesserten Schutz der Adhäsionsproteine auf der Alginatoberfläche vor biologischen Abbauprozessen können die Träger anschließend in eine Lösung mit einem darin befindlichen chemischen Proteininstabilisator eingebracht werden, vorzugsweise Tannin in einer Konzentration von ca. 1 %. Nach einer Reaktionszeit, die im Fall der Tanninlösung bevorzugt ca. 10 Minuten beträgt, erfolgt die Abtrennung der Träger,

zweckmäßig mit einer Zentrifuge.

Abschließend werden die Träger in eine Suspension vereinzelter, aufzubringender Zellen eingebracht, die sich selbsttätig auf seiner Oberfläche ansiedeln. Die Vereinzelung der Zellen kann beispielsweise auf übliche Weise aus einem Zellverband oder von einer anderen Trägeroberfläche unter Verwendung des Enzyms Trypsin erfolgen.

Mit dem Ziel, Größenänderungen bei Schwankungen der Ionenkonzentration mit der nachfolgenden Gefahr einer Ablösung des Adhäsionsproteins zu vermeiden, enthält der Träger zweckmäßig eine chemische Puffersubstanz, beispielsweise RPMI 1640. Zur Beaufschlagung mit der Puffersubstanz wird der aus Alginat bestehende Trägerkern vorzugsweise in einer Lösung der Puffersubstanz gelagert, wobei zweckmäßige Zeiträume abhängig von den Abmessungen des Trägers zwischen einigen Stunden und Tagen liegen. Anschließend erfolgt auf vorbeschriebene Weise das Aufbringen der Proteinschicht und Zellen auf den Träger.

Zur Gewinnung der Zellen von der Oberfläche läßt sich der erfindungsgemäße Träger, wie im Stande der Technik bekannt, in eine Lösung lytischer Enzyme, etwa Trypsin, einbringen. Auf diese Weise wird die Zellablösung von der Oberfläche bewirkt. Alternativ besteht die Möglichkeit seines Einbringens in eine Lösung mit darin befindlichem Komplexbildner, vorzugsweise EDTA (Ethyldiamintetraessigsäure). Die EDTA-Konzentration liegt bevorzugt um 5 Millimol, wobei eine calcium- und magnesiumionenfreie, phosphatgepufferte Kochsalzlösung ein geeignetes Lösungsmittel darstellt. Die EDTA-Lösung bewirkt eine Auflösung des Alginats, wobei die Prozesstemperatur zweckmäßig etwa 35 bis 40 Grad Celsius ist. Die geeignete Zeitdauer der Einwirkung beträgt abhängig von geometrischen Parametern des Trägers zwischen einer und einigen zehn Minuten. Auf diese Weise erhält man freie Zellschichten auf dem Adhäsionsproteinsubstrat, die sich aus der Lösung abtrennen lassen. Somit ist eine rasche Gewinnung von Zellen und Zellgemischen ohne Schädigung durch lytische Enzyme möglich. Denkbar ist, die nach Entfernung des Alginats verbleibende Hohlkugel aus Adhäsionsprotein mit den Zellen zunächst in einer Nährlösung zum weiteren Zellwachstum zu belassen, wobei sich das Wachstum von Zellen im Inneren der Proteinhülle aufgrund der verbesserten Diffusion erheblich beschleunigt.

Um auch die Adhäsionsproteinschicht des Trägers aufzulösen, wird er oder die von ihm abgetrennten Zellen mit der anhaftenden Proteinschicht in eine Lösung eines auf das Protein lytisch wirkenden Enzyms eingebracht, beispielsweise Kollagenase im Fall von Kollagen. Abhängig von der Zielsetzung kann der Einsatz des Enzyms in unterschiedlichen Verfahrensschritten erfolgen. Soll lediglich eine vollständige Auflösung des Trägers vorgenommen werden, kann das Enzym der EDTA-Lösung zugesetzt werden oder nach Abtrennen der Zellen aus der Lösung auf sie einwirken. Um dage-

gen Zellen im Inneren des Alginats vor nachteiligen Einflüssen des Enzyms zu schützen, erfolgt die Auflösung der Proteinschicht vor dem Einbringen des Trägers in die EDTA-Lösung. Somit wird ein unmittelbarer Kontakt der Zellen im Alginatinneren mit dem Enzym vermieden.

Weitere Einzelheiten, Merkmale und Vorteile der Erfindung lassen sich dem nachfolgenden Beschreibungsteil entnehmen, in dem ein Ausführungsbeispiel anhand der Zeichnung näher erläutert ist. Sie zeigt den Querschnitt durch einen erfindungsgemäßen Träger für Zellkulturen in prinzipienhafter Darstellung.

Der Kern des Trägers besteht aus Alginat (1), dem bevorzugt ein Ionenpuffer sowie gegebenenfalls Wirkstoffe zur Beeinflussung des Zellwachstums zugesetzt sind. Seine Oberfläche ist mit einer durchgehenden Schicht eines Adhäsionsproteins (2), beispielsweise Kollagen, überzogen. Auf der Oberfläche (3) des Adhäsionsproteins (2) haften Zellen (4), die vermehrt werden sollen oder gewünschte Wirkstoffe produzieren. Dagegen zeigen Untersuchungen, daß auf einer proteinfreien Alginatoberfläche keine Ansiedlung von Zellen (4) oder Zellverbänden erfolgt.

Häufig ist es erforderlich, verschiedene Zellen (4, 5) in Co-Kultur zu züchten, wobei die unterschiedlichen Zellsorten beispielsweise in einer Stoffwechselbeziehung miteinander stehen. Ist lediglich die Gewinnung einer Sorte der Zellen (4, 5) beabsichtigt, so bietet sich eine räumliche Trennung an. Zu diesem Zweck ist der Träger in seinem Inneren mit Hohlräumen (6) versehen, in denen die Zellen (5) eingeschlossen sind. Somit lassen sich beispielsweise die Zellen (4) sortenrein von der Oberfläche (3) gewinnen, indem das Adhäsionsprotein (2) durch eine Protease aufgelöst wird, welche das Alginat (1) unbeeinflusst läßt. Nach erneuter Aufbringung eines Adhäsionsproteins (2) auf den Alginatkern sowie einzelner Zellen (4) auf die Oberfläche (3) kann ein weiterer Wachstumszyklus erfolgen. Das Alginat (1) mit den Zellen (5) bleibt dabei erhalten, so daß sich Prozeßaufwand und -kosten erheblich verringern.

Im Ergebnis entsteht somit ein stabiler, biokompatibler Träger für trägergebundene Zellen, der sich sowohl zur Herstellung künstlicher Organe als auch zum Einsatz in biotechnischen Reaktoren eignet und von dem sich Zellen alternativ mit einer Proteinase zur Auflösung des Adhäsionsproteins oder enzymfrei durch Auflösung des Alginats abtrennen lassen.

#### Patentansprüche

1. Träger für Zellkulturen, insbesondere Mikroträger für Bioreaktoren oder künstliche Organe, auf dessen Oberfläche trägergebundene Zellen angesiedelt sind, **dadurch gekennzeichnet**, daß
  - der Träger aus einem Alginat (1) besteht,
  - die Oberfläche (3) des Trägers mit einer

Schicht aus einem Adhäsionsprotein (2) überzogen ist

- und die Zellen (4) auf dem Adhäsionsprotein (2) befindlich sind. 5
- 2. Träger nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Adhäsionsprotein (2) Kollagen ist. 10
- 3. Träger nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Adhäsionsprotein (2) chemisch stabilisiert ist. 15
- 4. Träger nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Stabilisator Tannin, Glutardialdehyd oder ein Carbodiimid ist. 20
- 5. Träger nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Alginat (1) Bariumalginat ist. 25
- 6. Träger nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Alginat (1) eine chemische Puffersubstanz enthält. 30
- 7. Träger nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Alginat (1) einen oder mehrere Hohlräume (6) umschließt. 35
- 8. Träger nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Alginat (1) oder die Hohlräume (6) Zellen oder Wirkstoffe zur Beeinflussung des Zellwachstums enthalten. 40
- 9. Träger nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß unterschiedliche Sorten von Zellen (4, 5) auf dem Träger angesiedelt sind. 45
- 10. Träger nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Sorten auf der Oberfläche (3) und in den Hohlräumen (6) befindlicher Zellen (4, 5) unterschiedlich sind. 50
- 11. Träger nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **gekennzeichnet durch** eine kugelförmige Gestalt. 55
- 12. Träger nach einem der Ansprüche 1 bis 10, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Träger die Gestalt eines biologischen Gewebes aufweist.
- 13. Träger nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Träger in eine Raumstruktur integriert ist.
- 14. Verfahren zur Herstellung von Trägern nach einem

der vorhergehenden Ansprüche, **gekennzeichnet durch** folgende Verfahrensschritte:

- Formung der Träger aus Alginat (1),
- Einbringen der Träger in eine Lösung eines Adhäsionsproteins (2),
- Gelierung des Adhäsionsproteins (2),
- Abtrennung der Träger aus der Lösung,
- Einbringen der Träger in eine Suspension der aufzubringenden Zellen (4).
- 15. Verfahren nach Anspruch 14, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Adhäsionsprotein (2) Kollagen ist.
- 16. Verfahren nach Anspruch 14 oder 15, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Träger vor dem Einbringen in die Kollagenlösung in einer chemischen Puffersubstanz gelagert wird.
- 17. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 16, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Träger nach dem Abtrennen aus der Lösung des Adhäsionsproteins (2) in eine Lösung mit einer proteinstabilisierenden Substanz eingebracht und nachfolgend daraus abgetrennt werden.
- 18. Verfahren zum Ablösen der Zellen (4) von der Oberfläche (3) eines Trägers nach einem der Ansprüche 1 bis 13, **gekennzeichnet durch** folgende Verfahrensschritte:
  - Einbringen des Trägers in eine Lösung mit einem Komplexbildner,
  - Belassen des Trägers in der Lösung des Komplexbildners bis zur Auflösung des Alginats (1),
  - Abtrennen der Zellen (4, 5) aus der Lösung.
- 19. Verfahren nach Anspruch 18, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Komplexbildner EDTA ist.
- 20. Verfahren nach Anspruch 18 oder 19, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Träger oder die abgetrennten Zellen (4, 5) in eine Lösung eines Enzyms eingebracht werden, welches das Adhäsionsprotein (2) löst.

